

<https://doi.org/10.37800/RM.4.2023.7-12>

УДК: 576.08

Потенциал внедрения электронно-микроскопического исследования сперматозоидов человека в практику отделения вспомогательных репродуктивных технологий

Д.В. Задубенко¹, В.Н. Локшин², Г.С. Зыкова³, Е.Е. Брагина⁴, З.Г. Айташева¹,
Р.В. Задубенко¹, В.А. Голиченков⁵

¹НАО «Казахский национальный университет им. аль-Фараби», Алматы, Республика Казахстан

²МКЦР «PERSONA», Алматы, Республика Казахстан;

³ФГАУ ВО «Южный федеральный университет», Ростов-на-Дону, Российская Федерация;

⁴НИИ ФХБ им. А.Н. Белозерского, Москва, Российская Федерация;

⁵ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова», Москва, Российская Федерация

АННОТАЦИЯ

Актуальность: Обусловленное астенозооспермией (АЗС) и тератозооспермией (ТЗС) бесплодие является серьезной медицинской и социальной проблемой. Согласно данным собственных исследований, в совокупности на долю их изолированных и сочетанных форм приходится свыше 60% мужского фактора бесплодия [1]. Подобные нарушения могут быть генетически детерминированы, однако в настоящее время на территории Евразийского Экономического Союза отсутствуют коммерчески доступные панели для определения генетически обусловленных нарушений морфологии и подвижности сперматозоидов. Электронно-микроскопическое исследование сперматозоидов (ЭМИС) представляет собой перспективный метод, позволяющий визуализировать и анализировать структурные аномалии сперматозоидов на уровне, недоступном для других методов.

Цель исследования – показать возможности электронно-микроскопического исследования сперматозоидов при диагностике астенотератозооспермии.

Материалы и методы: Исследование включало трансмиссионную электронную микроскопию сперматозоидов. Нативную сперму разбавляли и фиксировали 2,5% глутаровым альдегидом. Ультратонкие срезы были получены на микротоме UltraCut III. Анализ проводился на электронном микроскопе JEM-1011 с увеличениями x4000, x25000.

Результаты: В ходе исследования были получены снимки, иллюстрирующие типы структурных аномалий, ассоциированных с АТЗС. Сперматозоиды были проанализированы при разном увеличении для выявления общего вида, аномалий аксонемы, хроматина ядра и митохондрий.

Заключение: ЭМИС представляет собой инструмент для подробного анализа морфологии сперматозоидов у пациентов с АЗС, ТЗС и при их сочетании. Полученные данные обеспечивают основу для более точной диагностики и персонализированного подхода к лечению, способствуя повышению эффективности в преодолении бесплодия.

Ключевые слова: электронная микроскопия, тератозооспермия (ТЗС), астенозооспермия (АЗС), астенотератозооспермия (АТЗС), морфология сперматозоидов, вспомогательные репродуктивные технологии (ВРТ).

Для цитирования: Задубенко Д., Локшин В., Зыкова Г., Брагина Е., Айташева З., Задубенко Р., Голиченков В. Потенциал внедрения электронно-микроскопического исследования сперматозоидов человека в практику отделения вспомогательных репродуктивных технологий // Репрод. Мед. — 2023. — №4(57). — С. 7-12.

<https://doi.org/10.37800/RM.4.2023.7-12>

The potential of introducing electron microscopic examination of human spermatozoa into the practice of the department of assisted reproductive technologies

D.V. Zadubenko¹, V.N. Lokshin², G.S. Zyкова³, E.E. Bragina⁴, Z.G. Aytasheva¹,
R.V. Zadubenko¹, V.A. Golichenkov⁵

¹«Al-Farabi Kazakh National University» NCJSC, Almaty, Republic of Kazakhstan;

²«PERSONA» International Clinical Center for Reproductology, Almaty, Republic of Kazakhstan;

³«Southern Federal University» SFedU, Rostov-on-Don, Russian Federation;

⁴A.N. Belozersky Research Institute of Physico-Chemical Biology MSU, Moscow, Russian Federation;

⁵«Lomonosov Moscow State University» Federal State Budget Educational Institution of Higher Education, Moscow, Russian Federation

ABSTRACT

Relevance: Infertility caused by asthenozoospermia (AZS) and teratozoospermia (TZS) is a serious medical and social problem. According to our research, isolated and combined forms of AZS and TZS account for over 60% of male factor infertility [1]. These disorders may have a genetic basis; however, within the Eurasian Economic Union, there are no commercially available panels for identifying genetically determined abnormalities in the morphology and motility of spermatozoa. Transmission electron microscopy of spermatozoa (TEM-S) emerges as a promising method, enabling the visualization and analysis of structural anomalies in spermatozoa at a level inaccessible by other methods.

The study aimed to demonstrate the TEM-S potential in diagnosing asthenoteratozoospermia.

Materials and Methods: The study involved transmission electron microscopy of spermatozoa. Native sperm was diluted and fixed with 2.5% glutaraldehyde. Ultrathin sections were obtained using an UltraCut III microtome. Analysis was conducted on a JEM-1011 electron microscope with magnifications of x4000 and x25000.

Results: The study produced images illustrating various structural anomalies associated with asthenoteratozoospermia (ATZS). Spermatozoa were analyzed at different magnifications to identify overall appearance, anomalies in the axoneme, chromatin of the nucleus, and mitochondria. **Conclusion:** TEM-S is a powerful tool for a detailed sperm morphology analysis in patients with AZS and TZS. The obtained data lay the foundation for more accurate diagnostics and a personalized approach to treatment, contributing to increased effectiveness in overcoming infertility.

Keywords: electron microscopy, asthenoteratozoospermia (ATZS), teratozoospermia (TZS), asthenozoospermia (AZS), sperm morphology, assisted reproductive technology (ART).

How to cite: Zadubenko D, Lokshin V, Zykova G, Bragina E, Aytasheva Z, Zadubenko R, Golichenkov V. The potential of introducing electron microscopic examination of human spermatozoa into the practice of the department of assisted reproductive technologies. *Reprod. Med.* 2023;(4):7-12.

<https://doi.org/10.37800/RM.4.2023.7-12>

Адам сперматозоидтарының электрондық микроскопиялық зерттеуін көмекші репродуктивтік технологиялар тәжірибесіне енгізу әлеуеті

Д.В. Задубенко¹, В.Н. Локишин², Г.С. Зыкова³, Е.Е. Брагина⁴, З.Г. Айташева¹, Р.В. Задубенко¹, В.А. Голиченков⁵

¹ «әл-Фараби атындағы Қазақ Ұлттық университеті» ҚЕАҚ, Алматы, Қазақстан Республикасы;

² «PERSONA» ХРКО, Алматы, Қазақстан Республикасы;

³ «Оңтүстік федералдық университеті» ЖКББ ФМАОО, Ростов-на-Дону, Ресей Федерациясы;

⁴ А.Н. Белозерский атындағы физикалық және химиялық биологиялық ғылыми-зерттеу институты, Мәскеу, Ресей Федерациясы;

⁵ «М.В. Ломоносов атындағы Мәскеу Мемлекеттік университеті» ФМБ ЖОО, Мәскеу, Ресей Федерациясы.

АНДАТПА

Өзектілігі: Астенозооспермия (АЗС) мен тератозооспермиядан (ТЗС) туындаған бедеулік күрделі медициналық және әлеуметтік мәселе болып табылады. Біздің жеке зерттеулерімізге сәйкес, жалпы алғанда олардың оқшауланған және біріктірілген түрлері ер бедеулігінің 60% -дан астамын құрайды [1]. Мұндай бұзылыстар генетикалық себептерге байланысты болуы мүмкін. Бірақ қазіргі уақытта Еуразиялық экономикалық одақ аумағында сперматозоидтардың морфологиясы мен қозғалғыштығының генетикалық бұзылыстарымен негізделген себептерін анықтайтын коммерциялық қол жетімді панельдер жоқ. Сперматозоидтардың электронды микроскопиялық зерттеуі (СЭМЗ) құрылымдық ауытқуларын визуализациялауға және талдауға мүмкіндік беретін перспективалық әдіс болып табылады.

Зерттеудің мақсаты: Астенотератозооспермия (АТЗС) диагностикасында ЭМИС мүмкіндіктерін көрсету.

Материалдар мен әдістер: Зерттеуде сперматозоидтардың трансмиссиялық электронды микроскопиясы қолданылды. Жергілікті сперматозоидты сұйытып 2,5% глутаральдегидпен бекіттік. Өте жұқа кесінділер UltraCut III микротомының көмегімен алынды. Талдау x4000, x25000 үлкейтетін JEM-1011 электронды микроскопында жүргізілді.

Нәтижелер: Зерттеу барысында астенотератозооспермиямен байланысты сперматозоидтардың құрылымдық ауытқулардың түрлерін көрсететін суреттер алынды. Жалпы сыртқы түрін, аксонемалық ауытқуларды, ядролық хроматинді және митохондрияларды анықтау үшін сперматозоидтар әртүрлі үлкейтулерде талданды.

Қорытынды: СЭМЗ астенозооспермия, тератозооспермия және олардың комбинациясы бар науқастарда сперматозоидтардың морфологиясын егжей-тегжейлі талдау құралы болып табылады. Алынған деректер бедеулікті жену тиімділігін арттыруға көмектесе отырып, нақты диагноз қоюға және жекелендірілген емдеуге негіз болуы мүмкін.

Түйінді сөздер: электронды микроскопия, тератозооспермия (ТЗС), астенозооспермия (АЗС), астенотератозооспермия (АТЗС), сперматозоидтардың морфологиясы, көмекші репродуктивтік технологиялар (КРТ).

Введение: Отклонения сперматозоидов и семенной плазмы являются причиной бесплодного брака примерно в 50% случаев [2]. Астенотератозооспермия (АТЗС), возникающая в результате умеренных или тяжелых морфологических дефектов жгутика сперматозоидов имеет генетически детерминированную природу [3]. В частности, за последнее десятилетие была проведена большая работа по генетическому исследованию множественных морфологических аномалий жгутика (ММАЖ) сперматозоидов [4-6]. Сообщается о связи ММАЖ и мутаций в генах CFAR43 и CFAR44, при этом доля сперматозоидов с аномальными жгутиками у мужчин с АТЗС, несущих мутантные аллели, составляет от 79,5 до 99,5% [7]. Мутации в гене DNAH1, играющем роль в формировании аксонемы сперматозоидов, ассоциированы с дефектами жгутиков [8]. Варианты DNHD1 и CFAR65 могут оказывать негативный эффект как на структуру аксонемы, так и на строение митохондриальной мембраны [9-10].

Также идентифицированы гены-кандидаты, характерные для других типов аномалий. К самым распространенным морфологическим нарушениям относят дефекты головки, причиной которых могут быть, например: ген AURKC, мутации в котором вызывают макрозооспермию – сперматозоиды с крупной головкой, и мутации DPY19L2, C2CD6, CCIN, GGN, PICK1, SPATA16, ZPBP1, отмеченные для глобозоспермии. Мутации в PICK1 приводят к появлению фенотипа, подобного глобозоспермии, однако также существует доказательство его роли в нарушении формирования акросомы, он является причиной ее фрагментации на ранних стадиях сперматогенеза [11]. Описаны случаи тяжелой тератозооспермии (ТЗС) с преобладающими аномалиями аморфной головки, спровоцированной миссенс-вариантом гена эндогенного мейотического ингибитора 2 FBXO43 [12].

В настоящее время на территории Евразийского Экономического Союза (ЕАЭС) коммерчески недоступны

панели определения генетически детерминированных нарушений морфологии и подвижности сперматозоидов, в связи с чем актуален вопрос по поиску средств принятия решений в отношении пациентов с АТЗС. Одним из таких средств может служить электронно-микроскопическое исследование сперматозоидов (ЭМИС). ЭМИС может дать возможность получить более полную картину типов аномалий у пациентов с АТЗС, определить дальнейшую тактику преодоления бесплодия (тип селекции сперматозоида для ИКСИ, использование донорского материала, дальнейшее обследование).

Цель исследования – показать возможности электронно-микроскопического исследования сперматозоидов при диагностике астеноэратозоспермии.

Материалы и методы: Для проведения трансмиссионной электронной микроскопии нативную сперму развели изотоническим раствором NaCl (Мосфарм, Россия) в соотношении 1:10, добавляли 0,1 мл фиксатора – 2,5% раствор глутарового альдегида (Ted Pella Inc., США), приготовленный на 0,1M какодильном буфере (pH 7,2) (Sigma, США), центрифугировали при 1500 об/мин (Elmi, Латвия) 15 мин, удаляли надосадочную жидкость, осадок фиксировали тем же фиксатором, дофиксировали 1% раствором осмиевой кислоты (Serva, Германия) и заливали в эпоксидную смолу – эпон (Fluka, Германия). Ультратонкие срезы получали на микротоме UltraCut III (Reichert Jung Optische Werke AG, Австрия), докрашивали водным раствором уранилацетата и цитратом свинца и просматривали в электронном микроскопе JEM-1011 (JEOL, Akishima, Япония), снабженном камерой Orius SC1000 W (Gatan Inc., Pleasanton CA, США) [13-14]. Общий вид сперматозоидов изучали при увеличении $\times 4000$, акросомы, хроматин ядра и митохондрии – при $\times 25000$, аномалии аксонемы на поперечных срезах жгутиков – при $\times 25000$. В каждом образце анализировали не менее 150 половых клеток [15].

Результаты: Полученные снимки иллюстрируют дефекты морфологии сперматозоидов, которые могут быть причиной нарушений их подвижности и оплодотворяющей функции. На представленном срезе жгутика (рисунок 1)

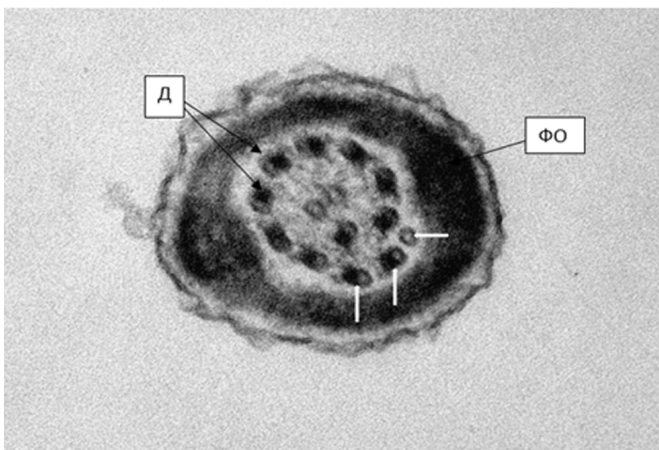


Рисунок 1 – Поперечный срез через жгутик сперматозоида из эякулята пациента с астеноэратозоспермией (аномальное расположение микротрубочек аксонемы. Девятая пара микротрубочек сдвинута к центру аксонемы. Белые стрелки указывают на два добавочных дуплета и добавочную одиночную микротрубочку). ФО – фиброзная оболочка жгутика. Д – дуплеты аксонемы).

Figure 1 – Cross-section through the sperm flagellum from the ejaculate of a patient with asthenozoospermia (abnormal arrangement of axonemal microtubules. The ninth pair of microtubules is shifted to the center of the axon. White arrows indicate two additional doublets and an additional single microtubule. FO – fibrous sheath of the flagellum. D – axoneme doublets).

отчетливо продемонстрирована аномалия аксонемы: неправильное расположение микротрубочек, нарушение количество микротрубочек аксонемы. Нарушения в структуре аксонемы вызывают снижение показателя подвижности в эякуляте, что, в свою очередь, ведет к снижению фертильности. Гетерогенные аномалии морфологии аксонемы жгутика при астеноэратозоспермии (АЗС), как правило, являются следствием функциональных нарушений.

Выявление гомогенных аномалий аксонемы (отсутствие динеиновых ручек аксонемы, отсутствие центральной пары микротрубочек) свидетельствует о возможности генетически обусловленной формы АЗС (рисунок 2).

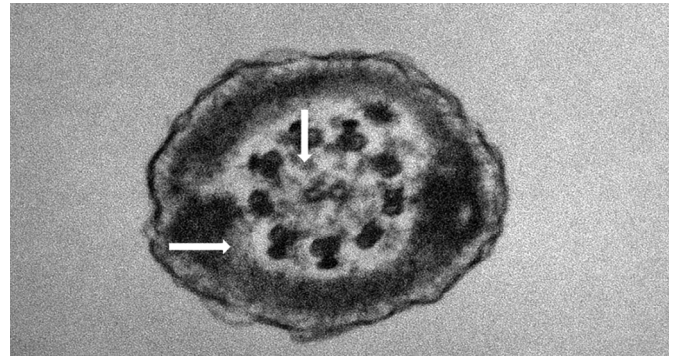


Рисунок 2 – Поперечный срез через жгутик сперматозоида из эякулята пациента с астеноэратозоспермией (белые стрелки указывают на отсутствующие динеиновые ручки периферических дуплетов микротрубочек аксонемы)

Figure 2 – Cross-section through the sperm flagellum from the ejaculate of a patient with asthenozoospermia (white arrows indicate missing dynein handles of peripheral axoneme microtubule doublets)

Причиной развития АТЗС могут быть структурные изменения, затрагивающие область шейки сперматозоида и митохондрии. Изменения формы митохондрий, их размеров и внутренней структуры указывают на потенциальные нарушения в функционировании и во взаимодействии с другими клеточными компонентами (рисунок 3), оказывающие влияние на движение сперматозоида и его энергетическое обеспечение.



Рисунок 3 – Продольный срез через сперматозоид из эякулята пациента с астеноэратозоспермией (головка аморфной формы (Г), митохондрии (М) нерегулярно расположены в избыточной остаточной цитоплазме. Несколько поперечных срезов через аксонему жгутика (Ж) свидетельствуют о наличии закрученного жгутика)

Figure 3 - Longitudinal section through a spermatozoon from the ejaculate of a patient with asthenozoospermia (amorphous head (G), mitochondria (M) are irregularly located in excess residual cytoplasm. Several transverse sections through the flagellar axoneme (G) indicate the presence of a twisted flagellum)

На данном снимке представлен сперматозоид с АТЗС (рисунок 3) и выраженной патологией: аморфная головка, закрученный в избыточной остаточной цитоплазме жгутик и нарушение структуры митохондриальной спирали. Такие дефекты могут иметь место под действием внешних факторов или нарушений в процессе формирования сперматозоида.

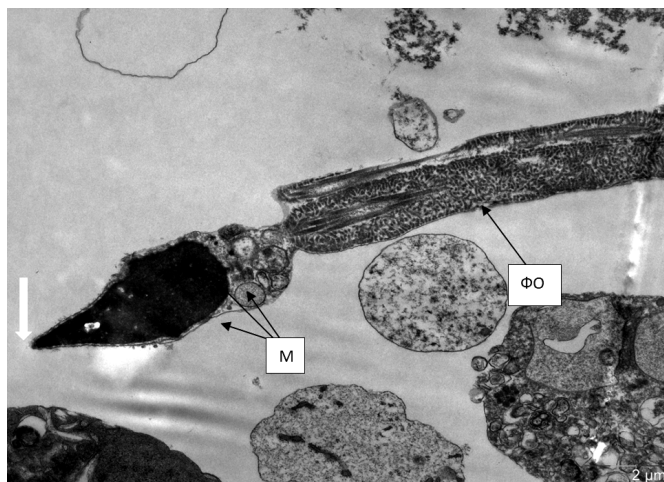


Рисунок 4 – Продольный срез через сперматозоид из эякулята пациента с астенотератозооспермией (единичные митохондрии (М) с электронно-прозрачным матриксом и отсутствием крист, акросома разрушена (стрелка). Периаксонемная фиброзная оболочка жгутика (ФО) состоит из беспорядочно ориентированных волокон)

Figure 4 – Longitudinal section through a spermatozoon from the ejaculate of a patient with asthenoteratozoospermia (single mitochondria (M) with an electron-transparent matrix and the absence of cristae, the acrosome is destroyed (arrow). The periaxonemal fibrous sheath of the flagellum (FO) consists of randomly oriented fibers)

На рисунке 4 представлен сперматозоид с нарушением структуры митохондриальной спирали: количество митохондрий значительно уменьшено, митохондрии с электронно-прозрачным матриксом и отсутствием крист, акросома разрушена. Этим изменениям сопутствует аномальная структура периаксонемной фиброзной оболочки жгутика, что указывает на генетически обусловленную АЗС – дисплазию фиброзной оболочки жгутика.

Обсуждение: Исследование сперматозоидов с использованием трансмиссионной электронной микроскопии предоставляет высокую разрешающую способность для детального изучения морфологии мужских половых клеток. Полученные снимки дают более полную характеристику цитологических аномалий, предоставляя информацию для установления причины развития тератозооспермии и астенозооспермии для разработки персонализированной стратегии лечения. Некоторые типы аномалий при тератозооспермии можно преодолеть с помощью процедуры ИКСИ, однако тяжелые патологические изменения сперматозоидов могут создать условия, при которых будет допустим только донорский материал. Подробная и полная догустика аномальной морфологии необходима для достоверной оценки эффективности ИКСИ и выбора типа селекции сперматозоидов или же рекомендаций донорских услуг. ЭМИС может поддерживать также и генетические исследования, помогая выявлять генетически обусловленные аномалии, влияющие на морфологию и функцию сперматозоидов.

Заключение: Полученные данные демонстрируют основу для более точной диагностики и персонализированного подхода к лечению. ЭМИС представляет собой важный инструмент для подробного анализа морфологии сперматозоидов у пациентов с ТЗС и АЗС и должен войти в практику отделений ВРТ в качестве инструмента, повышающего результативность программ ЭКО. Так же следует принимать во внимание то, что, зачастую, причины идиопатического мужского бесплодия скрыты заключением «нормозооспермия», ЭМИС является тем резервом, который может и должен быть использован, на наш взгляд, при неоднократных неудачных попытках ЭКО.

ЛИТЕРАТУРА

1. Задубенко Д., Локшин В., Арепьев В., Ким И., Пак М., Айташева З. Показатели фертильности эякулята молодых мужчин-жителей г. Алматы, жалующихся на бесплодный брак // Репрод. Мед. – 2020. – № 4 (45). – С. 57-62 [Zadubenko D., Lokshin V., Arep'ev V., Kim I., Pak M., Ajtashева Z. Pokazateli fert'il'nosti e'yakulyata molodykh muzhchin-zhitelej g. Almaty, zhalyuyshixsya na besplodnyj brak // Reprod. Med. – 2020. – № 4 (45). – S. 57-62 (in Russ.)]. <https://doi.org/10.37800/RM2020-1-35>
2. Leslie S. W., Siref L. E., Soon-Sutton T. L., Khan M. A. Male infertility. – Treasure Island (FL): StatPearls Publishing. – 2020. <https://europepmc.org/article/nbk/nbk562258>
3. Cavarocchi E., Whitfield M., Saez F., Toure A. Sperm Ion Transporters and Channels in Human Asthenozoospermia: Genetic Etiology, Lessons from Animal Models, and Clinical Perspectives // Int. J. Mol. Sci. – 2022. – Vol. 23. – P. 3926. <https://doi.org/10.3390/ijms23073926>
4. Jiao S.-Y., Yang Y.-H., Chen S.-R. Molecular Genetics of Infertility: Loss-of-Function Mutations in Humans and Corresponding Knockout/Mutated Mice // Hum. Reprod. – 2017. – Vol. 27. – P. 154-189. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmaa034>
5. Toure A., Martinez G., Kheraff Z.-E., Cazin C., Beurois J., Arnoult C., Ray P.F., Coutton C. The Genetic Architecture of Morphological Abnormalities of the Sperm Tail // Hum. Genet. – 2020. – Vol. 140. – P. 21-42. <https://link.springer.com/article/10.1007/s00439-020-02113-x>
6. Sironen A., Shoemark A., Patel M., Loebinger M.R., Mitchison H.M. Sperm Defects in Primary Ciliary Dyskinesia and Related Causes of Male Infertility // Call. Mol. Life Sci. – 2020. – Vol. 77. – P. 2029-2048. <https://link.springer.com/article/10.1007/s00018-019-03389-7>
7. Tang S., Wang X., Li W., Yang X., Li Z., Liu W., Li C., Zhu Z., Wang L., Wang J., Zhang L., Sun X., Zhi E., Wang H., Li H., Jin L., Luo Y., Wang J., Yang S., Zhang F. Biallelic mutations in CFAP43 and CFAP44 cause male infertility with multiple morphological abnormalities of the sperm flagella // Am. J. Hum. Genet. – 2017. – Vol. 100 (6). – P. 854-864. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ajhg.2017.04.012>
8. Khelifa M.B., Coutton C., Zouari R., Karaouze'ne T., Rendu J., Bidart M., Yassine S., Pierre V., Delaroche J., Hennebicq S., Grunwald D., Escalier D., Pernet-Gallay K., Jouk P.-S., Thierry-Mieg N., Toure A., Arnoult C., Ray P.F. Mutations in DNAH1, which encodes an inner arm heavy chain dynein, lead to male infertility from multiple morphological abnormalities of the sperm flagella // Am. J. Hum. Genet. – 2014. – Vol. 94 (1). – P. 95-104. [https://www.cell.com/ajhg/pdf/S0002-9297\(13\)00532-6.pdf](https://www.cell.com/ajhg/pdf/S0002-9297(13)00532-6.pdf)
9. Tan C., Meng L., Lv M., He X., Sha Y., Tang D., Tan Y., Hu T., He W., Tu C., Nie H., Zhang H., Du J., Lu G., Fan L.-q., Cao Y., Lin G., Tan Y.-Q. Bi-allelic variants in DNHD1 cause flagellar axoneme defects and asthenoteratozoospermia in humans and mice // Am. J. Hum. Genet. – 2022. – Vol. 109 (1). – P. 157-171. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2021.11.022>
10. Wang W., Tu C., Nie H., Meng L., Li Y., Yuan S., Zhang Q., Du J., Wang J., Gong F., Fan L., Lu G.-X. Biallelic mutations in CFAP65 lead to severe asthenoteratozoospermia due to acrosome hypoplasia and flagellum malformations // J. Med. Genet. – 2019. – Vol. 11. – P. 750-757. <http://dx.doi.org/10.1136/jmedgenet-2019-106031>

11. Yaqian L., Yan W., Yuting W., Tao Z., Xiaodong W., Chuan J., Rui Z., Fan Z., Daijuan C., Yihong Y. Whole-exome sequencing of a cohort of infertile men reveals novel causative genes in teratozoospermia that are chiefly related to sperm head defects // *Hum. Reprod.* – 2022. – Vol. 31. – P. 152-177. <https://doi.org/10.1093/humrep/deab229>
12. Ma Y., Xie N., Xie D., Sun L., Li S., Li P., Li Y., Li J., Dong Z., Xie X. A novel homozygous FBXO43 mutation associated with male infertility and teratozoospermia in a consanguineous Chinese family // *Fertil. Steril.* – 2019. – Vol. 111 (5). – P. 909-917.e1. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2019.01.007>
13. Moretti E., Sutura G., Collodel G. The importance of transmission electron microscopy analysis of spermatozoa: Diagnostic applications and basic research // *Syst. Biol. Reprod. Med.* – 2016. – Vol. 62 (3). – P. 171-183. <https://doi.org/10.3109/19396368.2016.1155242>
14. Брагина Е.Е., Бочарова Е.Н. Количественное электронно-микроскопическое исследование сперматозоидов при диагностике мужского бесплодия // *Андрология и генитальная хирургия.* – 2014. – №. 1. – С. 41-50 [Bragina E.E., Bocharova E.N. Kolichestvennoe e'lektronno-mikroskopicheskoe issledovanie spermatozoidov pri diagnostike muzhskogo besplodiya // *Andrologiya i genital'naya xirurgiya.* – 2014. – №. 1. – S. 41-50 (in Russ.)]. <https://cyberleninka.ru/article/n/kolichestvennoe-elektronno-mikroskopicheskoe-issledovanie-spermatozoidov-pri-diagnostike-muzhskogo-besplodiya>
15. Брагина Е.Е., Арифюлин Е.А., Лазарева Е.М., Лелекова М.А., Коломиец О.Л., Чоговадзе А.Г., Сорокина Т.М., Курило Л.Ф., Поляков В.Ю. Нарушение конденсации хроматина сперматозоидов и фрагментация ДНК сперматозоидов: есть ли корреляция? // *Андрология и генитальная хирургия.* – 2017. – Т. 18 (1). – С. 48-61 [Bragina E.E., Arifulin E.A., Lazareva E.M., Lelekova M.A., Kolomicz O.L., Chogovadze A.G., Sorokina T.M., Kurilo L.F., Polyakov V.Yu. Narushenie kondensatsii hromatina spermatozoidov i fragmentatsiya DNK spermatozoidov: est' li korrelyatsiya? // *Andrologiya i genital'naya xirurgiya.* – 2017. – Т. 18 (1). – S. 48 (in Russ.)]. <https://cyberleninka.ru/article/n/narushenie-kondensatsii-hromatina-spermatozoidov-i-fragmentatsiya-dnk-spermatozoidov-est-li-korrelyatsiya>

REFERENCES

1. Задубенко Д., Локшин В., Арепьев В., Ким И., Пак М., Айташева З. Показатели фертильности эякулята молодых мужчин-жителей г. Алматы, жалующихся на бесплодный брак. *Репрод Мед.* 2020;4(45):57-62. Zadubenko D, Lokshin V, Arepuev V, Kim I, Pak M, Aitasheva Z. Semen fertility indicators of young men of the city of Almaty with complaints about unfertilized marriage. *Reprod Med.* 2020;4(45):57-62. (In Russ.). <https://doi.org/10.37800/RM2020-1-35>
2. Leslie SW, Siref LE, Soon-Sutton TL, Khan MA. Male infertility. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2020. <https://europepmc.org/article/nbk/nbk562258>
3. Cavarocchi E, Whitfield M, Saez F, Toure A. Sperm Ion Transporters and Channels in Human Asthenozoospermia: Genetic Etiology, Lessons from Animal Models, and Clinical Perspectives. *Int J Mol Sci.* 2022;23:3926. <https://doi.org/10.3390/ijms23073926>
4. Jiao SY, Yang YH, Chen SR. Molecular Genetics of Infertility: Loss-of-Function Mutations in Humans and Corresponding Knockout/Mutated Mice. *Hum Reprod.* 2017;27:154-189. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmaa034>
5. Toure A, Martinez G, Kheraff ZE, Cazin C, Beurois J, Arnoult C, Ray PF, Coutton C. The Genetic Architecture of Morphological Abnormalities of the Sperm Tail. *Hum Genet.* 2020;140:21-42. <https://link.springer.com/article/10.1007/s00439-020-02113-x>
6. Sironen A, Shoemark A, Patel M, Loebinger MR, Mitchison HM. Sperm Defects in Primary Ciliary Dyskinesia and Related Causes of Male Infertility. *Call Mol Life Sci.* 2020;77:2029-2048. <https://link.springer.com/article/10.1007/s00018-019-03389-7>
7. Tang S, Wang X, Li W, Yang X, Li Z, Liu W, Li C, Zhu Z, Wang L, Wang J, Zhang L, Sun X, Zhi E, Wang H, Li H, Jin L, Luo Y, Wang J, Yang S, Zhang F. Biallelic mutations in CFAP43 and CFAP44 cause male infertility with multiple morphological abnormalities of the sperm flagella. *Am J Hum Genet.* 2017;100(6):854-864. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ajhg.2017.04.012>
8. Khelifa MB, Coutton C, Zouari R, Karaouze ne T, Rendu J, Bidart M, Yassine S, Pierre V, Delaroche J, Hennebicq S, Grunwald D, Escalier D, Pernet-Gallay K, Jouk P-S, Thierry-Mieg N, Toure A, Arnoult C, Ray PF. Mutations in DNAH1, which encodes an inner arm heavy chain dynein, lead to male infertility from multiple morphological abnormalities of the sperm flagella. *Am J Hum Genet.* 2014;94(1):95-104. [https://www.cell.com/ajhg/pdf/S0002-9297\(13\)00532-6.pdf](https://www.cell.com/ajhg/pdf/S0002-9297(13)00532-6.pdf)
9. Tan C, Meng L, Lv M, He X, Sha Y, Tang D, Tan Y, Hu T, He W, Tu C, Nie H, Zhang H, Du J, Lu G, Fan L-q, Cao Y, Lin G, Tan Y-Q. Bi-allelic variants in DNHD1 cause flagellar axoneme defects and asthenoteratozoospermia in humans and mice. *Am J Hum Genet.* 2022;109(1):157-171. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2021.11.022>
10. Wang W, Tu C, Nie H, Meng L, Li Y, Yuan S, Zhang Q, Du J, Wang J, Gong F, Fan L, Lu GX. Biallelic mutations in CFAP65 lead to severe asthenoteratozoospermia due to acrosome hypoplasia and flagellum malformations. *J Med Genet.* 2019;11:750-757. <http://dx.doi.org/10.1136/jmedgenet-2019-106031>
11. Yaqian L, Yan W, Yuting W., Tao Z., Xiaodong W., Chuan J, Rui Z, Fan Z, Daijuan C, Yihong Y. Whole-exome sequencing of a cohort of infertile men reveals novel causative genes in teratozoospermia that are chiefly related to sperm head defects. *Hum Reprod.* 2022;31:152-177. <https://doi.org/10.1093/humrep/deab229>
12. Ma Y, Xie N, Xie D, Sun L, Li S, Li P, Li Y, Li J, Dong Z, Xie X. A novel homozygous FBXO43 mutation associated with male infertility and teratozoospermia in a consanguineous Chinese family. *Fertil Steril.* 2019;111(5):909-917.e1. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2019.01.007>
13. Moretti E, Sutura G, Collodel G. The importance of transmission electron microscopy analysis of spermatozoa: Diagnostic applications and basic research. *Syst Biol Reprod Med.* 2016;62(3):171-183. <https://doi.org/10.3109/19396368.2016.1155242>
14. Брагина Е.Е., Бочарова Е.Н. Количественное электронно-микроскопическое исследование сперматозоидов при диагностике мужского бесплодия. *Андрология и генитальная хирургия.* 2014;1:41-50
Bragina EE, Bocharova EN. Quantitative electron microscopic examination of sperm in the diagnosis of male infertility. *Andrologiya i genital'naya xirurgiya.* 2014;1:41-50. (In Russ.). <https://cyberleninka.ru/article/n/kolichestvennoe-elektronno-mikroskopicheskoe-issledovanie-spermatozoidov-pri-diagnostike-muzhskogo-besplodiya>
15. Брагина Е.Е., Арифюлин Е.А., Лазарева Е.М., Лелекова М.А., Коломиец О.Л., Чоговадзе А.Г., Сорокина Т.М., Курило Л.Ф., Поляков В.Ю. Нарушение конденсации хроматина сперматозоидов и фрагментация ДНК сперматозоидов: есть ли корреляция? *Андрология и генитальная хирургия.* 2017;18(1):48-61.
Bragina EE, Arifulin EA, Lazareva EM, Lelekova MA, Kolomicz OL, Chogovadze AG, Sorokina TM, Kurilo LF, Polyakov VYu. Impaired sperm chromatin condensation and sperm DNA fragmentation: is there a correlation? *Andrologiya i genital'naya xirurgiya.* 2017;18(1):48. (In Russ.). <https://cyberleninka.ru/article/n/narushenie-kondensatsii-hromatina-spermatozoidov-i-fragmentatsiya-dnk-spermatozoidov-est-li-korrelyatsiya>

Данные авторов:

Задубенко Денис Владимирович – PhD-докторант КазНУ им. Аль-Фараби, Алматы, Казахстан, тел.: +77754002111, e-mail: denis_zadubenko@mail.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-5007-3281>

Локшин Вячеслав Нотанович – д.м.н., профессор, президент Казахстанской Ассоциации Репродуктивной Медицины, директор МКЦР «PERSONA», Алматы, Казахстан, тел.: +77017558209, e-mail: v_lokshin@persona-ivf.kz, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-4792-5380>

Зыкова Галина Сергеевна (корреспондирующий автор) – магистрант Южного Федерального Университета, Ростов-на-Дону, Россия, тел.: +79234786889, e-mail: morgansilence@gmail.com, ORCID ID: <https://orcid.org/0009-0001-2085-4885>

Брагина Елизавета Ефимовна – д.б.н., старший научный сотрудник НИИ ФХБ А.Н. Белозерского, Москва, Россия, тел.: +79035564263, e-mail: bragor@mail.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-8422-4962>

Айташева Зауре Гайнетдиновна – д.б.н., профессор КазНУ им. Аль-Фараби, Алматы, Казахстан, тел.: +77474522129, e-mail: zaureaitasheva@gmail.com, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-0395-6740>

Задубенко Руслан Владимирович – студент КазНУ им. Аль-Фараби, Алматы, Казахстан, тел.: +77754002112, e-mail: ruslan_zadubenko@mail.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0009-0001-2160-7763>

Голиченков Владимир Александрович – д.б.н., профессор МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия, тел.: +79037572955, e-mail: affen@mail.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-3543-6464>

Адрес для корреспонденции: Зыкова Г.С., Южный Федеральный Университет, Большая Садовая ул., 105/42, Ростов-на-Дону, Ростовская обл., Россия, 344006

Вклад авторов:

вклад в концепцию – Задубенко Д.В., Локшин В.Н., Брагина Е.Е., Голиченков В.А., Айташева З.Г.

научный дизайн – Задубенко Д.В., Брагина Е.Е., Зыкова Г.С., Айташева З.Г., Голиченков В.А.

исполнение заявленного научного исследования – Задубенко Д.В., Брагина Е.Е., Зыкова Г.С.

интерпретация заявленного научного исследования – Брагина Е.Е., Задубенко Д.В., Задубенко Р.В., Зыкова Г.С., Локшин В.Н., Голиченков В.А.

создание научной статьи – Задубенко Д.В., Зыкова Г.С., Брагина Е.Е., Задубенко Р.В.

Финансирование: Работа выполнена в рамках подготовки PhD-докторанта Задубенко Д.В. за счет средств республиканского бюджета.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов

Authors' details:

Zadubenko D.V. – Ph.D. student, «Al-Farabi Kazakh National University» NCJSC, Almaty, Kazakhstan, tel. +77754002111, e-mail: denis_zadubenko@mail.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-5007-3281>

Lokshin V.N. – Doctor of Medical Sciences, Professor, President of the Kazakhstan Association of Reproductive Medicine, Director of «PERSONA» International Clinical Center for Reproductology, Almaty, Kazakhstan, tel. +77017558209, e-mail: v_lokshin@persona-ivf.kz, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-4792-5380>

Zykova G.S. (corresponding author) – Master's student at the «Southern Federal University» SFedU, Rostov-on-Don, Russia, tel. +79234786889, e-mail: morgansilence@gmail.com, ORCID ID: <https://orcid.org/0009-0001-2085-4885>

Bragina E.E. – Doctor of Biological Sciences, Senior Researcher at «A.N. Belozersky Research Institute of Physico-Chemical Biology MSU», Moscow, Russia, tel. +79035564263, e-mail: bragor@mail.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-8422-4962>

Aitasheva Z.G. – Doctor of Biological Sciences, Professor at «Al-Farabi Kazakh National University» NCJSC, Almaty, Kazakhstan, tel. +77474522129, e-mail: zaureaitasheva@gmail.com, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-0395-6740>

Zadubenko R.V. – Student at «Al-Farabi Kazakh National University» NCJSC, Almaty, Kazakhstan, tel. +77754002112, e-mail: ruslan_zadubenko@mail.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0009-0001-2160-7763>

Golichenkov V.A. – Doctor of Biological Sciences, Professor at «Lomonosov Moscow State University» Federal State Budget Educational Institution of Higher Education, Moscow, Russia, tel. +79037572955, e-mail: affen@mail.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-3543-6464>

Address for correspondence: Zykova G.S., Southern Federal University, Bolshaya Sadovaya St. 105/42, Rostov-on-Don, Rostov region, Russia, 344006

Authors' contributions:

contribution to the concept – Zadubenko D.V., Lokshin V.N., Bragina E.E., Golichenkov V.A., Aitasheva Z.G.

study design – Zadubenko D.V., Bragina E.E., Zykova G.S., Aitasheva Z.G., Golichenkov V.A.

execution of the study – Zadubenko D.V., Bragina E.E., Zykova G.S.

interpretation of the study – Bragina E.E., Zadubenko D.V., Zadubenko R.V., Zykova G.S., Lokshin V.N., Golichenkov V.A.

preparation of the manuscript – Zadubenko D.V., Zykova G.S., Bragina E.E., Zadubenko R.V.

Funding: The study was carried out as part of the training of Ph.D. student Zadubenko D.V., at the expense of the Republican budget.

Conflict of interest: The authors declare no conflict of interest.

Study transparency: The authors are solely responsible for the content of this article.